

## AGENT FOR PREVENTING AND IMPROVING OSTEOARTHROPATHY

Patent Number: JP2001158736  
Publication date: 2001-06-12  
Inventor(s): TAKADA YUKIHIRO; MATSUBARA NORIYOSHI; YANAGIDAIRA SHUICHI; KAWAKAMI HIROSHI; AOE SEIICHIRO  
Applicant(s): SNOW BRAND MILK PROD CO LTD  
Requested Patent: ☐ JP2001158736  
Application Number: JP19990340211 19991130  
Priority Number(s):  
IPC Classification: A61K31/164; A23L1/30; A61K31/688; A61K31/7032; A61P19/00; A61P19/10  
EC Classification:  
Equivalents:

### Abstract

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To provide an agent for preventing and improving osteoarthropathy such as osteoporosis, fracture, lumbago and rheumatism, and to provide a drink, food or feed to which an effect for preventing and improving the osteoarthropathy is imparted.

**SOLUTION:** This agent for preventing or improving the osteoarthropathy, containing a sphingosine skeleton-having compound such as ceramide, sphingomyelin, a sphingoglycolipid or ganglioside as an active ingredient, or containing the sphingosine skeleton-having compound and further suitably one or more substances selected from calcium agents, vitamin D and vitamin K.

Data supplied from the esp@cenet database - I2

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2001-158736

(P2001-158736A)

(43)公開日 平成13年6月12日(2001.6.12)

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テームト(参考)
A 6 1 K 31/164		A 6 1 K 31/164	4 B 0 1 8
A 2 3 L 1/30		A 2 3 L 1/30	Z 4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/688		A 6 1 K 31/688	4 C 2 0 6
	31/7032	31/7032	
A 6 1 P 19/00		A 6 1 P 19/00	

審査請求 未請求 請求項の数5 OL (全 8 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願平11-340211	(71)出願人	000006699 雪印乳業株式会社 北海道札幌市東区苗穂町6丁目1番1号
(22)出願日	平成11年11月30日(1999. 11. 30)	(72)発明者	高田 幸宏 埼玉県川越市小堤62-22
		(72)発明者	松原 範宜 北海道札幌市白石区中央2条7-5-6光 シティー I I B-8
		(72)発明者	柳平 修一 埼玉県鶴ヶ島市富士見5-2-4
		(74)代理人	100105061 弁理士 児玉 喜博

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 骨関節疾患の予防及び改善剤

(57)【要約】

【課 題】 骨粗鬆症、骨折、腰痛、リウマチなどの骨関節疾患の予防及び改善剤、あるいは骨関節疾患の予防及び改善効果を賦与した飲食品又は飼料の提供。

【解決手段】 セラミド、スフィンゴミエリン、スフィンゴ糖脂質、ガングリオシドなどのスフィンゴシン骨格を有する化合物を有効成分とし、あるいはスフィンゴシン骨格を有する化合物を配合し、さらに、適宜、カルシウム剤、ビタミンD及びビタミンKから選ばれる一種以上の物質を加えることによって、骨関節疾患の予防及び改善効果を得る。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 スフィンゴシン骨格を有する化合物を有効成分とする骨関節疾患の予防及び改善剤。

【請求項2】 スフィンゴシン骨格を有する化合物が、セラミド、スフィンゴミエリン、スフィンゴ糖脂質又はガングリオシドである請求項1記載の骨関節疾患の予防及び改善剤。

【請求項3】 さらに、カルシウム剤、ビタミンD及びビタミンKから選ばれる一種以上の物質を含有する請求項1又は2記載の骨関節疾患の予防及び改善剤。

【請求項4】 スフィンゴシン骨格を有する化合物を配合して骨関節疾患の予防及び改善効果を賦与した飲食品又は飼料。

【請求項5】 さらに、カルシウム剤、ビタミンD及びビタミンKから選ばれる一種以上の物質を配合した請求項4記載の飲食品又は飼料。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、スフィンゴシン骨格を有する化合物を有効成分とする骨関節疾患の予防及び改善剤に関する。また、本発明は、スフィンゴシン骨格を有する化合物を配合して骨関節疾患の予防及び改善効果を賦与した飲食品又は飼料に関する。

【0002】

【従来の技術】近年、高齢化に伴い、骨粗鬆症、骨折、腰痛及びリウマチなどの骨関節疾患が増加している。骨組織においては、絶えず骨形成と骨吸収が営まれており、若い時には骨形成と骨吸収のバランスがとれているが、加齢に伴い種々の原因からそのバランスが骨吸収に傾いてくる。そして、この状態が長期間続くと骨組織が脆くなり、骨粗鬆症、骨折及び腰痛などの骨関節疾患を生じることになる。このアンカッピングを防ぐことができれば、骨粗鬆症、骨折及び腰痛などの骨関節疾患を予防できると考えられている。また、リウマチは、炎症から最終的に骨吸収を伴う疾患であることから、骨吸収を抑制することでリウマチを予防及び改善することができると考えられている。

【0003】従来より、アンカッピングを防ぎ、各種骨関節疾患を予防及び改善する方法として、(1) 食事によるカルシウムの補給、(2) 軽い運動、(3) 日光浴、(4) 薬物治療などが行われている。1の食事によるカルシウムの補給には、通常、炭酸カルシウム、リン酸カルシウムなどのカルシウム塩や牛骨粉、卵殻、魚骨粉などの天然カルシウム剤が使用されている。2の軽い運動については、軽いランニングや散歩などが良いとされるが、体が弱っていると軽い運動もやっかいなものとなり、まして寝たきりの老人になると殆ど運動することはできない。また、3の日光浴は、活性化ビタミンD<sub>3</sub>の補給を補完するという点では良いとされているが、各種骨関節疾患に関わる問題全般を解決できるわけではな

い。さらに、4の薬物治療としては、1 $\alpha$ -ヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>、カルシトニン製剤などが骨粗鬆症の治療及び改善に有効であることが知られている。しかし、カルシトニン製剤は医薬品としてのホルモン製剤であり、食品素材のように毎日摂取することができ、かつ安全な各種骨関節疾患を予防及び改善する物質については検討されていないのが現状である。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】上記するように、骨粗鬆症、骨折、腰痛及びリウマチなどの骨関節疾患は大きな社会問題になっており、これらの症状を予防及び改善する方法が求められている。本発明者らは、各種骨関節疾患の予防及び改善効果を有する物質を得べく鋭意研究を進めてきたところ、牛乳や牛脳中に含まれるセラミド、スフィンゴミエリン、スフィンゴ糖脂質、ガングリオシドなどのスフィンゴシン骨格を有する化合物に各種骨関節疾患を予防及び改善する効果があることを見出した。そして、カルシウム剤、ビタミンD、ビタミンKを加えることによりその効果が高まることを見出し、本発明を完成するに至った。したがって、本発明は、スフィンゴシン骨格を有する化合物を有効成分とする骨関節疾患の予防及び改善剤を提供すること、及びカルシウム剤、ビタミンD及びビタミンKから選ばれる一種以上の物質を加えた上記の骨関節疾患の予防及び改善剤を提供することを課題とする。また、本発明は、スフィンゴシン骨格を有する化合物を配合して骨関節疾患の予防及び改善効果を賦与した飲食品又は飼料を提供すること、及びカルシウム剤、ビタミンD及びビタミンKから選ばれる一種以上の物質を加えた上記の飲食品又は飼料を提供することを課題とする。

【0005】

【課題を解決するための手段】本発明では、セラミド、スフィンゴミエリン、スフィンゴ糖脂質、ガングリオシドなどのスフィンゴシン骨格を有する化合物を骨関節疾患の予防及び改善剤の有効成分として使用する。また、本発明では、セラミド、スフィンゴミエリン、スフィンゴ糖脂質、ガングリオシドなどのスフィンゴシン骨格を有する化合物を飲食品や飼料に配合して骨関節疾患の予防及び改善効果を賦与する。スフィンゴシンは、スフィンゴ脂質を構成する長鎖塩基の1種であり、生体中に広く分布している。スフィンゴシンは、生体内で、脂肪酸と酸アミド結合してセラミドを構成し、スフィンゴ脂質の骨格を成している。

【0006】スフィンゴ脂質は、細胞膜を構成する成分であり、その大部分がスフィンゴ糖脂質やスフィンゴリン脂質として存在している。スフィンゴ脂質は、脳や神経系又は赤血球に多く含まれている。また、種々の食品中にも含まれているが、特に牛乳中に多く含まれている。スフィンゴ脂質の生理作用に関しては、非常に多くの報告がこれまでになされてきている。例えば、スフィ

ンゴシン蛋白質リン酸化酵素Cを阻害すること、単球やマクロファージ系細胞の分化を促進する作用を有すること、上皮細胞成長因子(EGF)レセプターの機能を調節する作用を有することなどである。また、スフィンゴ脂質の中でも、ガングリオシドは、脳虚血障害やパーキンソン病による脳障害の治療にも応用されている。

【0007】スフィンゴシン骨格を有する化合物のセラミド、スフィンゴミエリン、スフィンゴ糖脂質、ガングリオシドなどの化合物は、化成品や動植物由来のものを使用すれば良い。そして、これらの化合物は、牛乳や牛脳などに含まれているので、生乳、粉乳、脱脂乳、還元乳などの牛乳や牛脳を原料とし、加熱、加塩、アルコール添加、イオン交換クロマトグラフィーやゲル濾過クロマトグラフィーなどの各種クロマトグラフィー、限外濾過(UF)などの処理を行うことにより得ることができる。なお、スフィンゴシン骨格を有する化合物は熱安定性を有するので、特に飲食品や飼料などに配合する際に極めて取扱いし易い。また、本発明では、上記したスフィンゴシン骨格を有する化合物を有効成分とする骨関節疾患の予防及び改善剤の効果をも高めるために、カルシウム剤、ビタミンD及びビタミンKから選ばれ一種以上の物質を加える。また、本発明では、上記したスフィンゴシン骨格を有する化合物を配合して骨関節疾患の予防及び改善効果を賦与した飲食品や飼料の効果をも高めるために、カルシウム剤、ビタミンD及びビタミンKから選ばれ一種以上の物質を加える。本発明で使用するカルシウム剤としては、例えば、塩化カルシウム、炭酸カルシウム、乳酸カルシウムなどのカルシウム塩、卵殻、あるいは牛乳由来のカルシウム含有組成物などを挙げることができるが、吸収性の良いカルシウム塩を使用することが望ましい。また、ビタミンDやビタミンKなどの骨に有効な成分を配合することが望ましい。このようなカルシウム剤やビタミン類は、スフィンゴシン骨格を有する化合物と作用機作が異なり、骨に対して相乗的に効果を示す。

#### 【0008】

【発明の実施の形態】本発明においては、化成品、あるいは牛乳や牛脳由来のスフィンゴシン骨格を有するセラミド、スフィンゴミエリン、スフィンゴ糖脂質、ガングリオシドなどの化合物を有効成分として、骨関節疾患の予防及び改善剤を調製し、さらに、カルシウム剤、ビタミンD及びビタミンKから選ばれ一種以上の物質を加えて、骨関節疾患の予防及び改善剤を調製する。また、本発明においては、化成品、あるいは牛乳や牛脳由来のスフィンゴシン骨格を有するセラミド、スフィンゴミエリン、スフィンゴ糖脂質、ガングリオシドなどの化合物を配合して骨関節疾患の予防及び改善効果を賦与した飲食品又は飼料を調製し、さらに、カルシウム剤、ビタミンD及びビタミンKから選ばれ一種以上の物質を加えて、骨関節疾患の予防及び改善効果を賦与した飲食品又

は飼料を調製する。

【0009】本発明においては、スフィンゴシン骨格を有する化合物を成人一人一日当たり1 $\mu$ g $\sim$ 10mgを数回に分けて摂取することにより、骨粗鬆症、骨折、腰痛及びリウマチなどの骨関節疾患を予防及び改善することができる。したがって、それらの量を摂取することができるように、スフィンゴシン骨格を有する化合物を飲食品や飼料に配合すれば良い。さらに、カルシウム剤、ビタミンD及びビタミンKから選ばれ一種以上の物質を適当量加えることにより、骨関節疾患の予防及び改善効果を高めることができる。なお、飲食品としては、例えば、牛乳、乳飲料、ジュース、ゼリー、ビスケット、パン、麺、ソーセージなどを挙げることができる。次に、実施例及び試験例を示し、本発明を詳細に説明する。

#### 【0010】

【参考例1】牛乳由来のガングリオシドの調製；公知のガングリオシド調製法(特開昭 63-369992号公報)に従い、牛乳由来のガングリオシドを調製した。すなわち、ガングリオシドを含む乳質物質に蛋白質分解酵素のトリプシンを40 $^{\circ}$ Cで15時間作用させて蛋白質を分解した後、得られた蛋白質分解物溶液を分子量分画10,000の膜で透析して、ガングリオシド高含有画分を得た。このガングリオシド高含有画分を凍結乾燥した後、クロロホルム-メタノール(1:1)溶液に溶解し、この溶液を陰イオン交換樹脂(DEAE-Sephadexアセテート型、ファルマシア社製)に通液して、ガングリオシドを吸着させた。次に、陰イオン交換樹脂をクロロホルム-メタノール

(1:1)溶液で洗浄した後、0.1M酢酸ナトリウム水溶液-メタノール溶液でガングリオシドを溶出した。そして、溶出液を減圧乾固した後、透析して脱塩し、凍結乾燥した。このようにして得られたガングリオシド画分(画分A)を薄層クロマトグラフィー(レゾルシノール法)で検出したところ、ガングリオシドGM3:ガングリオシドGD3:ガングリオシドGT3=10:90:1であった。さらに、画分Aを分画した。すなわち、クロロホルム-メタノール(8:8(v/v))溶液に画分Aを懸濁し、シリカゲル(イアトロピース、iatron laboratory社製)カラムに添加して、8:2(v/v)から2:8(v/v)までのクロロホルム-メタノール溶液でグラジエント溶出し、ガングリオシドGM3画分(画分B)、ガングリオシドGD3画分(画分C)及びガングリオシドGT3画分(画分D)に分画した。このようにして得られた各ガングリオシド画分を薄層クロマトグラフィー(レゾルシノール法)で検出したところ、純度は95%以上であった。

#### 【0011】

【参考例2】牛脳由来のガングリオシドの調製；一般に広く行われているガングリオシド調製法に従い、牛脳由来のガングリオシドを調製した。すなわち、屠殺直後に摘出し、-20 $^{\circ}$ Cで保存しておいた牛脳5kgを凍結乾燥し

た後、ミキサーで粗い粉末とし、メタノール 10 l を加えて60℃に加熱して30分放置し、ガングリオシドを含む画分を抽出し、抽出後、直ぐに吸引濾過して得られた濾液を-10℃で一晩放置した。そして、生成した沈澱を手早く吸引濾過して回収し、Folch分配した後、その上層を減圧濃縮し、凍結乾燥した。このようにして得られた画分をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで処理して、中性脂質及びスルファチドを分離し、ガングリオシド画分(画分E) 4.87g を得た。このようにして得られた画分Eには、ガングリオシドG D1a、ガングリオシドGM1、ガングリオシドG D1b、ガングリオシドG T1bなどが含まれていた。さらに、画分Eを分画した。すなわち、Q-Sepharose カラムに、クロロホルム-メタノール-水(30:60:8)溶液 500mlに溶解した画分Eを添加して、クロロホルム-メタノール-水(30:60:8)溶液 3 lからクロロホルム-メタノール-4酢酸ナトリウム水溶液(30:60:8)溶液 3 lまででグラジエント溶出し、ガングリオシドG D1a(画分F)1,220mq、ガングリオシドGM1(画分G)102mq、ガングリオシドG D1b(画分H)451mq、ガングリオシドG T1b(画分I)540mqを得た。

【0012】

【参考例3】牛乳由来のスフィンゴミエリンの調製；牛乳からスフィンゴミエリンを調製した。すなわち、バターオイルを製造する際に排出されるバターセーラム10kgを凍結乾燥した後、これを60℃でメタノール90 lに溶解した。室温で12時間放置した後、生成した沈澱が混入しないように上清を回収し、減圧濃縮してメタノールを除去した。得られた固形物を脱イオン水 10 lに溶解した後、限外濾過して低分子画分を除去し、凍結乾燥して高分子画分を得た。この高分子画分は600gであり、この高分子画分に含まれるスフィンゴミエリン含量は15.2%であった。さらに、スフィンゴミエリンを精製するために、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製した。すなわち、シリカゲルカラム 10 lに、スフィンゴミエリンを含む高分子画分500gを溶解したクロロホルム：メタノール(9:1)溶液を添加した。そして、メタノール濃度を高めてグラジエント溶出し、スフィンゴミエリン画分(画分J) 37.3gを得た。このようにして得られたスフィンゴミエリン画分は純度98%以上であった。

【0013】

【参考例4】牛乳由来のセラミドの調製；参考例1で得られたガングリオシド画分(画分A)からセラミドを調製した。すなわち、酢酸緩衝液(pH 5.5)中で、画分A 2.0gに対して Endoglycoceramidase(宝酒造社製) 500Uを添加し、12時間反応させた。反応後、反応液をFolch分配して脂質画分を回収し、陰イオン交換樹脂カラムクロマトグラフィーで糖脂質を除去した。そして、オクタデシルシリルカラムクロマトグラフィーでセラミド部分を精製し、窒素を吹き付け乾固させた。このようにして、

セラミド画分(画分K) 6gを得た。このセラミド画分は純度98%以上であった。

【0014】

【試験例1】スフィンゴシン骨格を有する化合物の骨吸収抑制効果；生後10~20日齢のICR系マウスの長管骨を摘出し、軟組織を除去した後、5%牛胎児血清を含む $\alpha$ -MEM溶液中で骨を機械的に細切し、破骨細胞を含む全骨髓細胞を得た。この細胞を象牙片の上に、約 $2 \times 10^5$ の細胞を5%牛胎児血清を含む $\alpha$ -MEM溶液でスポットした。数時間後、スフィンゴシン骨格を有する化合物を50ng/mlの濃度となるように添加した5%牛胎児血清を含む $\alpha$ -MEM溶液を加え、5%二酸化炭素存在下、37℃で5日間培養し、破骨細胞の骨吸収活性を調べた。培養後、象牙片上の細胞を剥がしてヘマトキシリン染色し、画像解析装置(PIASLA-555、PIAS社製)により画像解析して、骨吸収窩(pit)数を測定した。そして、次式で定義される骨吸収活性(%)を求め、骨吸収抑制効果を評価した。

骨吸収活性(%) = (骨吸収窩数/無添加群の骨吸収窩数)  $\times 100$

なお、スフィンゴシン骨格を有する化合物としては、参考例1~4で得られた画分A~Kを使用した。その結果を表1に示す。

【0015】

【表1】

試験試料	骨吸収活性(%, $\pm$ SD)
画分A	53.4 $\pm$ 7.8
画分B	56.5 $\pm$ 8.4
画分C	46.8 $\pm$ 5.7
画分D	67.6 $\pm$ 4.5
画分E	54.3 $\pm$ 7.5
画分F	51.5 $\pm$ 6.4
画分G	57.3 $\pm$ 5.1
画分H	50.6 $\pm$ 4.8
画分I	65.3 $\pm$ 3.4
画分J	42.3 $\pm$ 4.6
画分K	50.5 $\pm$ 3.9

【0016】スフィンゴシン骨格を有する化合物を添加した培地で培養すると、無添加の培地で培養した時に比べて、骨吸収が抑制されており、スフィンゴシン骨格を有する化合物が優れた骨吸収抑制効果を示すことが確認できた。

【0017】

【試験例2】スフィンゴシン骨格を有する化合物の骨吸収防止及び骨強化作用；参考例1で得られた画分A及び参考例3で得られた画分Jについて、骨粗鬆症モデルラットを用いた投与試験により、骨吸収防止効果を調べ

た。また、画分A及びJに吸収性の良い牛乳由来のカルシウム剤（乳Ca：特開平4-306622号公報参照）及びビタミンD（VD）200IUを加えて同様の試験を行った。試験動物に投与した飼料の組成は、表2に示すように、各成分を配合した原料に必要に応じてスフィンゴシン骨格を有する化合物を添加した。飼料中のカルシウム量とリ\*

\* ン量は共に全ての群で飼料100g当たり 300mgになるようにし、カルシウム：リン比を1：1とした。そして、この飼料を 0.3%添加して試験を行った。

【0018】

【表2】

	対照	シャム	画分		画分+乳Ca <sup>1)</sup> +VD <sup>2)</sup>	
			A	J	A	J
蔗糖	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0
カゼイン	20.0	20.0	18.0	18.0	18.0	18.0
コーンスターチ	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0
セルロース	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
トウモロコシ油	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
ビタミン混合 (コリン含む)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
ミネラル混合	4.0 <sup>1)</sup>	4.0 <sup>1)</sup>	4.0 <sup>1)</sup>	4.0 <sup>1)</sup>	4.0 <sup>2)</sup>	4.0 <sup>2)</sup>
(単位：g/100g)						
画分A	—	—	0.0001	—	0.0001	—
画分J	—	—	—	0.0001	—	0.0001

(単位：重量%)

【0019】1) 炭酸カルシウムをカルシウム源とした。

2) 牛乳由来のカルシウム剤をカルシウム源とした。

3) ビタミンD 200IUを配合した。

試験動物として、32週齢のSD系雌性ラットを用いた。30 骨粗鬆症モデルラットは、一週間予備飼育した後に卵巣摘出手術を施し、低カルシウム食で2カ月間飼育することにより作成した。また、疑似手術を施し、卵巣を摘出しないシャムラットも7匹作成した。投与試験は、1試験群7匹に群分けし、表2の試験食を1カ月間投与して行った。試験食投与後、各実験群のラットの大腿骨を摘出し、骨塩量測定装置で骨塩量を測定し、破断特性測定装置で骨強度を測定した。その結果を表3及び表4に示す。

【0020】

【表3】

※

骨塩量 (mg, ±SD)

シャム	127.4 ± 3.5 *
対照	109.5 ± 4.1
画分A	117.2 ± 3.8 *
画分J	119.3 ± 4.5 *
画分A+乳Ca+VD	126.1 ± 4.9 *
画分J+乳Ca+VD	121.7 ± 4.4 *

\* 対照群に対して有意差あり (P<0.05)

【0021】表3に示したように、大腿骨の骨塩量は、対照群に較べて、画分A及びJ群で統計的に有意に高い値を示した。このことから、スフィンゴシン骨格を有する化合物には骨吸収防止効果があることが判った。また、吸収性の良い乳カルシウム及びビタミンDを加えることにより、その効果はさらに増大することが判った。

【0022】

【表4】

骨破断力 (10<sup>5</sup> dyn)

シャム	12.8 ± 2.9*
対照	6.4 ± 1.7
画分A	8.2 ± 1.5*

9	
画分J	8.4 ± 1.9*
画分A + 乳Ca + V D	9.1 ± 2.1*
画分J + 乳Ca + V D	9.5 ± 2.4*

10

\* 対照群に対して有意差あり (P&lt;0.05)

【0023】表4に示したように、大腿骨の破断力は対照群に較べて、画分A及びJ群で統計的に有意に高い値を示した。このことから、スフィンゴシン骨格を有する化合物には骨強化作用があることが判った。また、吸収性の良い乳カルシウム及びビタミンDを加えることにより、その効果はさらに増大することが判った。なお、ビタミンDに代えてビタミンKを加えても、同様の結果であった。

【0024】

【試験例3】表5の配合の原料に牛乳由来のガングリオシド0.000008重量%及びビタミンD200IUを加えて混合して容器に充填し、加熱滅菌して飲料を製造した。なお、対照群では、表5の配合の原料にアルブミン0.00005重量%及びビタミンD 200IUを加えた。

【0025】

\* 【表5】

結晶ブドウ糖	15.0	(重量%)
カルシウム	0.5	
10 水	74.0	

【0026】変形性関節症（関節の開裂の収縮）の女性患者20人をボランティアとして、10人ずつ2群に分け、上記の飲料を1ヶ月間飲用してもらい、飲用開始前と飲用終了後に、骨吸収の骨代謝マーカーである尿中デオキシビリジノリン量を測定して評価した。また、問診を行って症状の変化を調べた。その結果を表6及び表7に示す。

【0027】

\*20 【表6】

デオキシビリジノリン減少量 (nM/mM Cr)

対照群	0.35 ± 0.4
試験群	0.84 ± 0.3*

\* 対照群に対して有意差あり (P&lt;0.05)

【0028】表6に示すように、カルシウム及びビタミンを配合した対照群においてもデオキシビリジノリン量は減少していたが、試験群ではさらに大きく減少していた。この結果から、スフィンゴシン骨格を有する化合物※

※を配合した飲料を飲用することにより、骨の破壊による骨吸収が極めてよく抑えられていることが判った。

【0029】

【表7】

	対照群		試験群	
	開始前	終了後	開始前	終了後
物理的圧迫の関節痛	10	9	10	10
動作時の関節痛	5	5	5	1
就寝時の関節痛	6	6	7	4
疲労時の関節痛	9	8	8	4
脱力感	6	6	7	2
開裂全体の関節痛	9	8	9	4

(単位: 人/10人)

【0030】表7に示すように、関節痛に関しても、スフィンゴシン骨格を有する化合物を配合した飲料を飲用することにより、痛みが軽減していることが判った。なお、スフィンゴシン骨格を有する化合物を配合したチーズでも同様の傾向が見られた。

【0031】

【実施例1】飲料の製造: 表8の配合の原料に牛乳由来のガングリオシド0.00005重量%及びビタミンD200IUを加えて混合して容器に充填し、加熱滅菌して、骨関節疾患の予防及び改善効果を賦与した飲料を製造した。

【0032】

50 【表8】

混合異性化糖	15.0 (重量%)
果汁	10.0
クエン酸	0.5
香料	0.1
カルシウム	0.5
水	73.9

\*【0033】

【実施例2】錠剤の製造：表9の配合の原料に牛乳由来のガングリオシド0.0001重量%及びビタミンD 200IUを加えて混合し、加圧成型して、骨関節疾患の予防及び改善効果を賦与した錠剤を製造した。

【0034】

【表9】

\*

含水結晶ブドウ糖	93.5 (重量%)
カルシウム	5.0
シュガーエステル	1.0
香料	0.5

【0035】

【実施例3】ビスケットの製造：表10の配合の原料に牛乳由来のガングリオシド0.0001重量%を加えて混合してドウを作成し、成型した後、ばい焼して、骨関節疾患の予防及び改善効果を賦与したビスケットを製造した。

【0036】

【表10】

小麦粉	50.0 (重量%)
砂糖	20.0
食塩	0.5
マーガリン	12.5

※卵

12.5

水

3.7

炭酸水素ナトリウム

0.1

重炭酸アンモニウム

0.2

炭酸カルシウム

0.5

20

【0037】

【実施例4】ゼリーの製造：表11の配合の原料に牛乳由来のスフィンゴミエリン0.0001重量%を加えて混合し、容器に充填した後、加熱滅菌して、骨関節疾患の予防及び改善効果を賦与したゼリーを製造した。

【0038】

【表11】

※

果糖	20.0 (重量%)
グラニュー糖	15.0
水飴	5.0
寒天	1.0
香料	0.1
カルシウム	0.1
水	58.8

【0039】

【実施例5】プロセスチーズの製造：表12の配合の原料に牛乳由来のガングリオシド0.0001重量%を加えて混合し、乳化温度85℃で乳化して、骨関節疾患の予防及び改善効果を賦与したプロセスチーズを製造した。

【0040】

【表12】

ゴーダチーズ	43.0 (重量%)
チェダーチーズ	43.5
クエン酸ナトリウム	2.0
牛乳由来のカルシウム	1.0
水	10.5

【0041】

【実施例6】12%脱脂乳に90℃で20分間加熱殺菌した後、ラクトバチルス・デルブルッキー・サブスピーシーズ・ブルガリクス(L.delbrueckii subsp.bulgaricus)及びストレプトコッカス・サーモフィルス(S.thermophilus)をそれぞれ接種し、二種類のスターターカルチャーを得た。そして、牛乳を主体とするヨーグルトミックスを主成分として、表13の配合の原料に牛乳由来のガングリオシド0.0001重量%を加えて混合した後、常法に従って発酵冷却を行い、骨関節疾患の予防及び改善効果を賦与したヨーグルトを製造した。

【0042】

【表13】

50



13	
ヨーグルトミックス	97.0 (重量%)
培養物(L.bulgaricus)	1.5
培養物(S.thermophilus)	1.5

## 【0043】

【実施例7】ドッグフードの製造：表14の配合の原料に牛乳由来のガングリオシド0.0002重量%を加えて混合し、骨関節疾患の予防及び改善効果を賦与したドッグフード（イヌ飼育用飼料）を製造した。

## 【0044】

## 【表14】

13	
大豆粕	12.0 (重量%)
脱脂粉乳	14.0
大豆油	4.0
コーン油	2.0
バーム油	28.0
トウモロコシ澱粉	15.0
小麦粉	9.0
ふすま	2.0

14	
* ビタミン混合物	9.0
ミネラル混合物	2.0
セルロース	3.0

## 【0045】

【発明の効果】セラミド、スフィンゴミエリン、スフィンゴ糖脂質、ガングリオシドなどのスフィンゴシン骨格を有する化合物を有効成分とすることにより、骨粗鬆症、骨折、腰痛、リウマチなどの骨関節疾患の予防及び改善剤を提供することができる。また、セラミド、スフィンゴミエリン、スフィンゴ糖脂質、ガングリオシドなどのスフィンゴシン骨格を有する化合物を配合することにより、骨粗鬆症、骨折、腰痛、リウマチなどの骨関節疾患の予防及び改善効果を賦与した飲食品又は飼料を提供することができる。さらに、上記した骨関節疾患の予防及び改善剤に、カルシウム剤、ビタミンD、ビタミンKを加えることにより、あるいは上記した骨関節疾患の予防及び改善効果を賦与した飲食品又は飼料に、カルシウム剤、ビタミンD、ビタミンKを加えることにより、それぞれの効果を高めることができる。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.<sup>7</sup> 識別記号  
A 6 1 P 19/10

F I  
A 6 1 P 19/10

(72)発明者 川上 浩  
埼玉県川越市藤間204-5  
(72)発明者 青江 誠一郎  
埼玉県狭山市新狭山2-8-9 ワコー第二  
新狭山マンション406

F ターム(参考) 4B018 LB01 LB02 LB06 LB07 LB08  
MD04 MD09 MD18 MD23 MD27  
MD28 MD30 MD52 ME05 MF02  
4C086 AA01 AA02 DA14 DA42 EA05  
EA06 HA04 MA01 MA02 MA04  
MA08 MA52 NA05 NA14 ZA96  
ZA97 ZB15 ZC20 ZC61 ZC75  
4C206 AA01 AA02 CB28-FA03 GA23  
GA25 MA01 MA02 MA04 MA22  
MA28 MA30 MA72 NA05 NA14  
ZA96 ZA97 ZB15 ZC20 ZC61  
ZC75